细叶十大功劳叶中总生物碱大孔树脂纯化及抗氧化研究

贾凯，刘俊，耿晓桐，张耀洲，肖颖*

（信阳农林学院 制药工程学院， 河南 信阳 464000）

摘要：为确定细叶十大功劳叶中总生物碱大孔树脂分离纯化的最佳工艺条件及抗氧化活性，通过比较 6 种大孔吸附树脂对总生物碱的静态吸附和解吸附效果，优选出最佳树脂并考察其动态纯化总生物碱的工艺条件，采用 DPPH 法对纯化前后的总生物碱抗氧化性能进行评价。结果表明：（1）AB-8 型大孔吸附树脂纯化效果最好，其最佳工艺条件为上样浓度 50 mg·mL^{-1}（生药浓度）、上样量 26 BV、上样液流速 2 BV·h^{-1}；吸附完成后，先以 3 BV 水洗，再以 4 BV 50%乙醇洗脱，在此条件下得到的总生物碱含量由 13.33%提高到 56.64%。（2）各样品对 DPPH 自由基的清除能力为对照品 Vc（IC_{50}=10.39 μg·mL^{-1}）＞总生物碱纯化品（IC_{50}=39.08 μg·mL^{-1}）＞总生物碱粗品（IC_{50}=55.28 μg·mL^{-1}）。AB-8 型大孔吸附树脂可有效富集细叶十大功劳叶中总生物碱有效部位，细叶十大功劳叶中总生物碱具有一定的抗氧化活性。

关键词：细叶十大功劳叶，总生物碱，AB-8 树脂，纯化，抗氧化

中图分类号：O629.3　　　**文献标识码：**A　　　文章编号：

Purification and antioxidant activity of total alkaloids from leaves of *Mahonia Fortunei* by macroporous resin

JIA Kai, LIU Jun, GENG Xiaotong, ZHANG Yaozhou, XIAO Ying*

（*College of Pharmaceutical Engineering*, *Xinyang Agriculture and Forestry University*, Xinyang 464000, Henan, China）

Abstract: In order to determine the optimum conditions and antioxidant activity of total alkaloids from leaves *Mahonia fortunei* by macroporous resins, the best resins were selected by comparing the static adsorption and desorption effects of six kinds of macroporous adsorption resins on total alkaloids. The process conditions for the dynamic purification of total alkaloids were investigated, and the anti-oxidation performance of total alkaloids before and after purification was evaluated by DPPH method. The results were as follows: (1) AB-8 macroporous adsorption resins had the best purification effects. The optimum process conditions were crude herbal dose of 50 mg·mL^{-1}, sample volume of 26 BV, sample flow rate of 2 BV·h^{-1}, eluted successively with 3 BV water and 4 BV 50% ethanol. Under these optimized conditons, the content of total alkaloids was increased from 13.33% to 56.64%. （2）The total alkaloids had good scavenging effects on DPPH· before and after

基金项目：河南省重大科技专项（创新示范专项）（201111310900）；校级科技创新团队建设项目（CXTD-201805） [Supported by Henan Province Major Science and Technology Project (Innovation Demonstration Project) (201111310900); School-level Scientific and Technological Innovation Team Construction Project(CXTD-201805)] 。

第一作者：贾凯(1988 -)，硕士，讲师，研究方向为分离过程与技术，（E-mail）529081488@qq.com。

***通信作者：**肖颖，硕士，讲师，研究方向为中药资源开发，（E-mail）puqi717@tom.com。

purification. The scavenging rate of DPPH· was Vc (IC_{50}=10.39 μg·mL^{-1}) > purified total alkaloids (IC_{50}=39.08 μg·mL^{-1}) > crude total alkaloids (IC_{50}=55.28 μg·mL^{-1}). AB-8 macroporous adsorption resin can effectively enrich the effective parts of total alkaloids from leaves of *Mahonia fortunei*, and the total alkaloids have certain antioxidant activities.

Key words: *Mahonia fortunei* leaf， total alkaloids， AB-8 macroporous resin， purification， antioxidation

细叶十大功劳（*Mahonia fortunei* ）系小檗科（Berberidaceae）十大功劳属（*Mahonia* Nutt.）常绿灌木，是一种常见的药用植物，具有清热解毒、滋阴强壮之功效（中国科学院《中国植物志》编委会，2001），用于治疗痢疾、腹泻、咽炎、牙痛等。现代药理表明，该属植物具有抗菌（蒲忠慧等，2016）、抗炎（Hu et al.，2016）及抗肿瘤（Wong et al.，2009）等生物活性，临床上主要用于湿疹（Donsky & Clarke，2007）和牛皮癣（Janeczek et al.，2018）的治疗。《中国药典》（2020 年版）收载的细叶十大功劳药用部分为其干燥茎，有效成分主要为小檗碱、药根碱、巴马汀等生物碱（国家药典委员会，2020）。研究表明该植物的叶同样也含有此类成分（樊丽博等，2011；张耀洲等，2017）。目前对于十大功劳总生物碱的化学研究多集中在含量测定（张耀洲等，2017；钟南海，2019）、提取工艺（周先强等，2015；严志伟等，2015）方面，纯化工艺研究多见于用一些色谱方法进行单体的分离（崔泽旭等，2018），而对于总生物碱有效部位的纯化研究尚未见报道。据统计，我国 2009 年—2018 年获得生产批准的 5 类中药新药共 18 项（张广斌等，2021），可见对中药有效部位的开发已成为中药创新药物研发的重要方向。然而，为达到 5 类中药新药有效部位含量必须高于 50%的要求，建立适用于工业化生产的纯化工艺就成为新药研发成功与否的关键问题。在获批生产的 5 类中药新药中，应用大孔树脂纯化工艺的占 50%（张广斌等，2021），可见大孔树脂纯化技术已成为中药有效部位纯化的常用且有效手段。

另外有研究（Hu et al.，2011）报道同属植物阔叶十大功劳叶的水提物表现出良好的抗氧化活性，但未对抗氧化活性物质基础做进一步研究，而功劳木生物碱类成分具有一定的抗氧化能力，且总生物碱抗氧化能力强于单体成分（朱姮等，2016）。为给工业生产上简便、高效地获得高纯度、高活性的细叶十大功劳总生物碱提供参考，促进细叶十大功劳叶部资源的开发利用，本研究以其叶中总生物碱有效部位为研究对象，采用大孔树脂纯化技术和 DPPH 抗氧化性能评价方法，通过比较 6 种不同极性大孔树脂对总生物碱的吸附和解吸特性以及总生物碱纯化前后的抗氧化活性变化，拟探讨以下问题：（1）细叶十大功叶总生物碱有效部位大孔树脂纯化工艺参数的优化；（2）细叶十大功叶总生物碱的体外抗氧化活性的初步评价。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器：TU-1810 型紫外-可见分光光度计（北京普析通用仪器有限责任公司）；AB135-S 型电子天平（梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司）；DKZ-1 型恒温振荡水槽（上海一恒科学仪器有限公司）；RE-52A 型旋转蒸发器（上海亚荣生化仪器厂）。

试剂：D101、AB-8、ADS-3、DA201、NKA-9、LD605 大孔树脂（天津浩聚树脂科技有限公司）；盐酸小檗碱对照品（批号为 HB03313，纯度≥98%，供含量测定用，陕西华昱生物科技有限公司）；1,1-二苯基-2-苦基肼（DPPH，分析纯，上海麦克林生化科技有限公司）；Vc（分析纯，国药集团化学试剂有限公司）；乙醇（分析纯，天津市大茂化学试剂厂）；水为纯化水。

鲜细叶十大功劳叶 12 月下旬采自信阳农林学院校园内，经信阳农林学院中药资源与开发教研室梁利香副教授鉴定为小檗科十大功劳属植物细叶十大功劳 *Mahonia fortunei*。样品处理：洗净，阴干，除去叶柄，粉碎，过 40 目筛备用。

1.2 方法

1.2.1 细叶十大功劳叶中总生物碱的含量测定

按照文献方法测定（张耀洲等，2017）。以盐酸小檗碱为对照品，测定波长为 345 nm，采用紫外分光光度法测定总生物碱质量浓度，盐酸小檗碱线性回归方程 A=0.063 73C - 0.006 81（R^2=0.9999）。

1.2.2 上样溶液及总生物碱粗品的制备

取细叶十大功劳叶粉末约 100 g（过 40 目筛），精密称定，加 8 倍生药体积的 75%乙醇加热回流提取 3 次，每次 2 h。冷至 40 ℃，滤过，滤液合并，减压浓缩至无醇味，静置过夜。过滤除去析出的黑色胶状物质，滤液加水定容至相当于原生药 25 倍体积（相当于含生药量 40 $mg \cdot mL^{-1}$），即得上样溶液。依法可制得其他浓度的上样溶液。按相同的提取方法，滤液经浓缩、真空干燥至恒重，即得总生物碱粗品（纯度 13.33%），置于干燥器中备用。

1.2.3 大孔吸附树脂型号的选择

1.2.3.1 树脂的预处理

分别取一定量的不同型号树脂（D101、AB-8、ADS-3、DA201、NKA-9、LD605）置于 95%乙醇中浸泡 12 h，充分溶胀后，湿法装柱，95%乙醇洗至流出液加适量水无白色浑浊出现，再用纯化水洗至无乙醇味为止，备用。

1.2.3.2 不同树脂的静态吸附试验和解吸试验考察

精密称取上述已处理好的树脂各 1.0 g，分别置于 100 mL 锥形瓶中，加入上样溶液 20 mL（生药浓度为 40 $mg \cdot mL^{-1}$），置恒温振荡水槽中振荡吸附 2 h（30 ℃，120 $r \cdot min^{-1}$），然后静置 24 h。滤过，滤液经适当稀释后测定吸光度计算出总生物碱质量浓度，计算饱和吸附量和静态吸附率。将抽滤后的树脂吸干表面水分后分别转移至 100 mL 锥形瓶中，加入 95%乙醇 30 mL，置恒温振荡水槽中振荡解吸 2 h（30 ℃，120 $r \cdot min^{-1}$），然后静置 24 h。滤过，滤液经适当稀释后测定吸光度计算出总生物碱质量浓度，计算吸附率与解吸率。

1.2.3.3 不同树脂的动态吸附、洗脱试验考察

分别将预处理过的 D101、AB-8、LD605 树脂湿法装柱（1.0 cm×20 cm，装柱量 10 mL）。缓慢加入上样溶液 100 mL（生药浓度为 40 $mg \cdot mL^{-1}$），控制流速为 2 $BV \cdot h^{-1}$，收集流出液。将吸附后的各树脂柱先后用纯化水 50 mL、80%乙醇 100 mL 洗脱，控制流速为 2 $BV \cdot h^{-1}$，收集流出液。各流出液经适当稀释后测定吸光度计算出总生物碱质量浓度，计算动态吸附率、动态解吸率。

1.2.4 AB-8 大孔吸附树脂纯化总生物碱的工艺研究

1.2.4.1 上样溶液浓度的确定

取预处理过的 AB-8 大孔吸附树脂，湿法装柱（1.0 cm×20 cm，装柱量 10 mL）。将不同生药浓度的十大功劳上样液以 2 $BV \cdot h^{-1}$ 的流速上样，每 2 BV 为 1 个流份，经适当稀释后测定各流份中的总生物碱质量浓度，进行不同上样浓度对树脂饱和吸附量的试验。

1.2.4.2 上样流速和上样量的确定

取相同质量预处理过的 AB-8 大孔吸附树脂，湿法装柱（1.0 cm×20 cm，装柱量 10 mL）。将上样溶液（生药浓度为 50 $mg \cdot mL^{-1}$）以不同流速上样，进行不同上样流速对树脂饱和吸附量的试验。

1.2.4.3 洗脱杂质用水量的确定

取预处理过的 AB-8 大孔吸附树脂，湿法装柱（1.0 cm×20 cm，装柱量 10 mL）。将 260 mL 上样溶液（生药浓度为 50 $mg \cdot mL^{-1}$）以 2 $BV \cdot h^{-1}$ 流速上样，吸附完全后，用水洗脱，每 1 BV

为一个流份，测定总生物碱质量浓度，同时将每一流份浓缩干燥，称其固形物质量，以总生物碱在固形物中的含量高低确定洗脱杂质用水量。

1.2.4.4 乙醇洗脱剂浓度及用量的确定

取 4 等份预处理过的 AB-8 大孔吸附树脂，湿法装柱（1.0 cm×20 cm，装柱量 10 mL）。将 260 mL 上样溶液（生药浓度为 50 mg·mL^{-1}）以 2 BV·h^{-1} 流速上样，吸附完全后，用水洗脱 3 BV 后，分别用 30%、40%、50%、60%乙醇洗脱，收集洗脱液，每 1 BV 为一个流份，绘制洗脱曲线。

1.2.4.5 验证性试验

取预处理过的 AB-8 大孔吸附树脂，湿法装柱（2.6 cm×30 cm，装柱量 100 mL）。将 2.6 L 上样溶液（生药浓度为 50 mg·mL^{-1}）以 2 BV·h^{-1} 流速上样，吸附完全后，用水洗脱 3 BV 后，再用 50%乙醇洗脱 4 BV，收集乙醇洗脱液，浓缩、干燥，测定总生物碱质量浓度。重复 3 次验证试验。

1.2.5 总生物碱抗氧化活性测定

采用常用的 DPPH 自由基清除法来评价总生物碱的抗氧化活性。参照文献（李侠等，2018）方法并略作修改。精密称取 DPPH 10 mg，置 250 mL 容量瓶中，用 95%乙醇溶解并稀释至刻度，摇匀，即得 1×10^{-4} mol·L^{-1}（40 μg·mL^{-1}）的 DPPH 工作液。精密称取“1.2.2”项中总生物碱粗品（黑绿色固体）、“1.2.4.5”项中总生物碱纯化品（黄绿色固体）和阳性对照品 V_C 各 10 mg，置 100 mL 容量瓶中，用 95%乙醇溶解并稀释至刻度，摇匀，即得质量浓度为 100 μg·mL^{-1} 的各待测溶液。各待测溶液对半稀释成 5 个浓度。实验组精密量取上述不同浓度的待测溶液 2 mL 与 DPPH 工作液 2 mL 置 10 mL 具塞试管中，摇匀，室温下暗处放置 30 min。依相同的方法，以不同浓度的待测溶液与 95%乙醇混合作为对照组，以 95%乙醇与 DPPH 工作液混合作为空白组。以 95%乙醇调零，测定各组在 517 nm 处的吸光度。每个浓度平行测定 3 次。依如下公式计算 DPPH 清除率。

$$\text{DPPH自由基清除率}/\% = (1-\frac{A_1-A_2}{A_0})\times 100$$

式中：A_0 为空白组的吸光度值；A_1 为实验组的吸光度值；A_2 为对照组的吸光度值。

2 结果与分析

2.1 总生物碱的含量测定结果

细叶十大功劳叶中总生物碱含量以盐酸小檗碱计为 4.16%。按标准曲线法求出上样溶液中总生物碱质量浓度为 1.43 mg·mL^{-1}（生药浓度为 40 mg·mL^{-1}）、1.76 mg·mL^{-1}（生药浓度为 50 mg·mL^{-1}）。

2.2 大孔吸附树脂型号筛选结果

2.2.1 不同树脂的静态吸附试验和解吸试验结果

根据十大功劳中生物碱的性质及各种树脂的性能，选取 6 种树脂进行考察，结果见表 1。

表 1 不同型号树脂对细叶十大功劳总生物碱的静态吸附率和解吸率

Table 1 Static adsorption and desorption rates of total alkaloids in *Mahonia fortunei* by different macroporous resins

树脂型号 Type of macroporous resin	饱和吸附量 Saturation adsorption capacity (mg • g^{-1})	静态吸附率 Static adsorption rate(%)	解吸量 Desorption capacity (mg • g^{-1})	静态解吸率 Static desorption rate (%)
D101	17.76	62.08	16.37	92.18
AB-8	18.47	64.57	16.95	91.75
ADS-3	17.24	60.27	14.89	86.33

LD605	18.24	63.76	16.58	90.89
DA201	15.69	54.86	10.72	68.31
NKA-9	13.38	46.77	8.83	65.96

由表 1 可以看出，D101、AB-8、LD605 树脂的吸附性能和解吸附性能都优于 ADS-3、DA201 及 NKA-9，因此对这 3 种树脂做进一步考察，优选出最佳型号的树脂。

2.2.2 不同树脂的动态吸附、洗脱试验结果

对 D101、AB-8、LD605 这 3 种树脂做动态吸附、洗脱试验考察，结果见表 2。

表 2 不同型号树脂对细叶十大功劳总生物碱的动态吸附率和解吸率

Table 2 Dynamic adsorption and desorption rates of total alkaloids in *Mahonia fortunei* by different macroporous resins

树脂型号 Type of macroporous resin	动态吸附量 Dynamic adsorption capacity (mg • mL^{-1})	动态吸附率 Dynamic adsorption rate(%)	解吸量 Desorption capacity (mg • mL^{-1})	动态解吸率 Dynamic desorption rate (%)
D101	12.32	86.15	11.78	95.62
AB-8	13.37	93.50	12.96	96.93
LD605	12.06	84.33	11.42	94.69

由表 1 和表 2 可以看出，3 种树脂洗脱能力差别不大，经水、乙醇洗脱后，95%左右的总生物碱都能被洗脱下来。但 AB-8 树脂动态吸附能力要较 LD605、D-101 好，综合考虑 3 种树脂的动态吸附和洗脱能力，优选 AB-8 大孔树脂进行细叶十大功劳提取液的纯化工艺试验。

2.3 AB-8 大孔吸附树脂纯化总生物碱的工艺研究结果

2.3.1 上样溶液浓度的确定

按“1.2.4.1”项的方法收集流份，并测定每流份中总生物碱质量浓度，以其与上样溶液总生物碱质量浓度比值为纵坐标，流出液体积为横坐标绘制不同上样溶液浓度下的穿透曲线，并计算各浓度下的饱和吸附量，结果见图 1 及图 2。

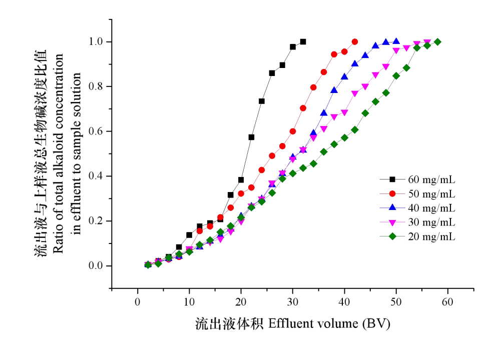


图 1 不同上样溶液浓度下的穿透曲线

Fig.1 Breakthrough curves at different feed concentrations

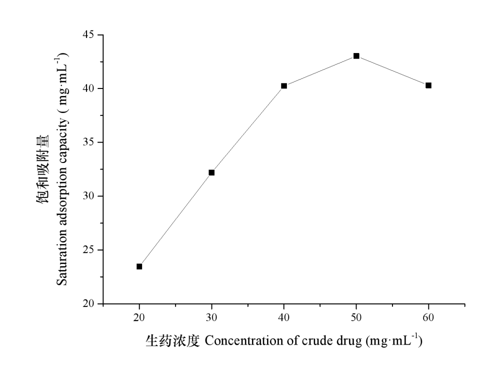


图 2 不同上样溶液浓度下的饱和吸附量

Fig.2 Saturated adsorption capacity at different feed concentrations

由图 2 可以看出，在一定浓度范围内，随着上样液浓度增大，穿透时间提前，树脂对总生物碱的饱和吸附量增大。当上样液浓度超过 50 mg·mL^{-1} 生药浓度后，树脂吸附量略有所下降，可能由于高浓度上样液中杂质与总生物碱竞争吸附导致。另外，高浓度上样液在静置后易出现沉淀浑浊现象。综合以上因素考虑，上样溶液浓度确定为 50 mg·mL^{-1} 生药浓度。

2.3.2 上样流速和上样量的确定

上样溶液（生药浓度为 50 mg·mL^{-1}）以不同流速上样，AB-8 树脂饱和吸附量分别为 44.82 mg·mL^{-1}（1 BV·h^{-1}）、43.05 mg·mL^{-1}（2 BV·h^{-1}）、40.83 mg·mL^{-1}（3 BV·h^{-1}）、38.58 mg·mL^{-1}（4 BV·h^{-1}）。

可以看出，流速越小，树脂的饱和吸附量越大，越有利于生物碱的吸附。但流速过小，上样时间长，吸附效率低。考虑到不同流速下树脂的饱和吸附量相差不大，为提高过柱效率，选择流速为 2 BV·h^{-1}。经计算，当流速为 2 BV·h^{-1}，上样量为 26 BV 时，上样液浓度下降接近 50%，树脂吸附量为饱和吸附量的 86.69%。故选择上样量为 26 BV 药液。

2.3.3 洗脱杂质用水量的确定

上样溶液（生药浓度为 50 mg·mL^{-1}），上样量 26 BV，流速 2 BV·h^{-1} 条件下，水洗结果见表 3。

表 3 不同体积水洗脱结果

Table 3 Eluting results with different volumes of water

流份 Fraction	总生物碱质量 Quality of total alkaloids (mg)	固形物质量 Quality of solid matters (mg)	固形物中总生物碱的含量 Content of total alkaloids in solids (%)
1	3.93	22.43	17.52
2	3.12	16.27	19.18
3	2.46	10.20	24.12
4	2.21	8.75	25.26
5	2.03	7.87	25.79

由表 3 可以看出，当洗脱用水量为 3 BV 时，固形物中总生物碱含量达到 24.12%，总生物碱损失较大。考虑到除杂目的及减少总生物碱损失，确定杂质洗脱用水量为 3 BV。

2.3.4 乙醇洗脱剂浓度及用量的确定

上样溶液（生药浓度为 50 mg·mL^{-1}），上样量 26 BV，流速 2 BV·h^{-1} 条件下，水洗 3 BV 后，醇洗结果见图 3。

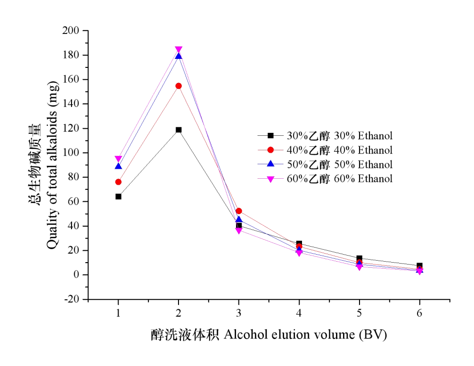


图 3 不同浓度洗脱溶液下的洗脱曲线

Fig.3 Eluting curves at different elution solution concentrations

由图 3 可以看出，随着乙醇洗脱剂浓度的增大，洗脱能力增强，生物碱集中出现在 50%及 60%乙醇洗脱液中，但 60%乙醇洗脱较 50%乙醇洗脱增加不明显。50%乙醇在 4 BV 内可将总生物碱的 90%以上洗脱下来，故选择 50%乙醇作为洗脱剂，用量为 4 BV。

2.3.5 验证性实验结果

上样溶液（生药浓度为 50 mg·mL^{-1}），上样量 26 BV，流速 2 BV·h^{-1} 条件下，水洗 3 BV 后，50%乙醇洗 4 BV，验证结果见表 4。

表 4 验证性实验结果

Table 4 Confirmatory test result

编号 No.	总生物碱质量 Quality of total alkaloids (g)	固形物质量 Quality of solid matters (g)	转移率 Desorption rate (%)	含量 Content (%)	平均值 Mean value (%)	RSD（%）
1	3.28	5.75	60.63	57.04		
2	3.32	5.88	61.37	56.46	56.64	0.62
3	3.17	5.62	58.60	56.41		

2.3.6 总生物碱抗氧化活性

总生物碱抗氧化活性结果如图 4 所示。

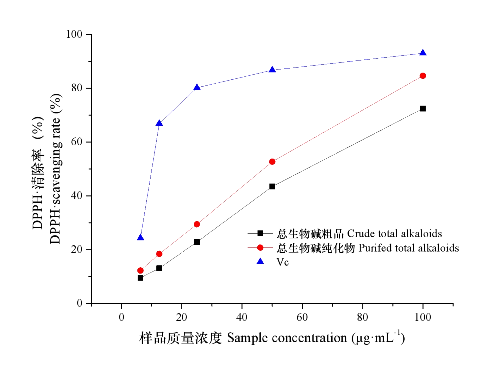


图 4 DPPH 自由基清除能力比较

Fig.4 Comparison of DPPH free radical scavenging ability

由图 4 可以看出，在测试浓度 6.25~100 μg·mL^{-1} 范围内，十大功劳总生物碱粗品、纯化品及对照品 Vc 对 DPPH 自由基的清除率随着浓度的增加而增加，其对 DPPH 自由基半抑制浓度 IC_{50} 分别为 55.28、39.08、10.39 μg·mL^{-1}。说明不同纯度的十大功劳总生物碱对 DPPH 自由基都具有一定的清除作用，且经大孔树脂纯化后抗氧化能力有了较大提升，但在相同质量浓度时

都比对照品 Vc 低。

3 讨论与结论

制备上样溶液时，提取液浓缩后需静置一段时间，待黑色胶状物质析出完全去除后再稀释，否则上样溶液在放置过程中会有黑色胶状物质析出，影响吸附效果。另外，上样溶液浓度不宜过高，否则上样溶液在静置过程中会出现浑浊现象，可能为细叶十大功劳总生物碱在水中溶解度较小所致。

不同类型的大孔树脂对化合物的吸附及解吸能力不同，因此选择适当的树脂非常重要。试验选取 6 种不同极性的大孔树脂，对比其对总生物碱的静态吸附和动态洗脱能力，结果显示弱极性（如 AB-8、LD605）及非极性（如 D101）树脂对细叶十大功劳总生物碱有较大的吸附量。结合洗脱能力的比较，最终选取 AB-8 大孔树脂用于细叶十大功劳总生物碱的纯化试验。这与文献（刘丽梅等，2010；林叶新等，2013）报道的同样含有盐酸小檗碱的黄柏、黄连药材总生物碱纯化选取的大孔树脂型号一致。AB-8 大孔树脂纯化工艺为：上样浓度为 50 $mg \cdot mL^{-1}$ 生药浓度，上样量为 26 BV，上样流速为 2 $BV \cdot h^{-1}$，先 3 BV 水洗，再 4 BV 50%乙醇洗脱，收集乙醇洗脱液，浓缩即得总生物碱。经 AB-8 大孔树脂纯化后的总生物碱含量符合 5 类中药新药有效部位含量应高于 50%的要求。

同细叶十大功劳药用部位茎相似，生物碱也是叶中主要的有效成分。此类生物碱多为季铵型生物碱，如主要成分小檗碱、药根碱等，具有广泛的药理活性。小檗碱既能抑制活性氧（ROS）生成，又可诱导抗氧化防御能力，还使病变细胞发生氧化应激，具备理想抗氧化剂的潜质（赵雪莉等，2019）。基于抗氧化剂在神经退行性疾病的预防和治疗方面的药理作用，研究（刘久石，2019）发现，含有大量小檗碱及其衍生物的功劳木药材作为潜在治疗神经退行性疾病药物具有重大潜力。本研究抗氧化活性表明，不同纯度的十大功劳总生物碱均具有一定的抗氧化能力，且纯化后的总生物碱抗氧化能力也有了一定的提高。因此，在细叶十大功劳药材的利用过程中，也应注重对非药用部位叶的开发和利用。

从细叶十大功劳叶中提取分离总生物碱，为充分利用该药材非药用部位资源提供可行性探索。AB-8 大孔树脂纯化十大功劳总生物碱工艺条件简单可行，纯化效果好，工艺稳定，可为细叶十大功劳总生物碱开发、制备及工业化生产提供参考。

参考文献：

Chinese Pharmacopoeia Commission, 2020. Pharmacopoeia of People’s Republic of China. Vol. Ⅰ[S]. Beijing: China Medical Science Press: 87. [国家药典委员会，2020. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社：87.]

CUI ZX, XU W, YANG XW, et al., 2018. Chemical constituents of lipophilic parts in water extract from stem of *Mahonia fortunei*[J]. Chin Trad Herb Drugs, 49(1): 80-89. [崔泽旭，徐嵬，杨秀伟，等，2018．细叶十大功劳茎水提取物脂溶性部位的化学成分研究[J]．中草药，49(1): 80-89.]

DONSKY H, CLARKE D, 2007. Reliéva, a *Mahonia* aquifolium extract for the treatment of adult patients with atopic dermatitis[J]. Am J Ther, 14(5): 442-446.

FAN LB, ZHANG XH, LIU XJ, et al., 2011. Chemical constituents analysis of *Mahonia fortunei*[J]. Chin J Vet Drug, 45(10): 34-36. [樊丽博，张晓会，刘兴金，等，2011．狭叶十大功劳化学成分分析[J]．中国兽药杂志，45(10)：34-36.]

Flora of China Commission, 2001. Flora of China[M]. Beijing: Science Press, 228-230. [中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志（第 29 卷）[M]．北京：科学出版社，2001:228-230.]

HU WC, WU L, QIANG Q, et al., 2016. The dichloromethane fraction from *Mahonia bealei* (Fort.) Carr. leaves exerts an anti-inflammatory effect both *in vitro* and *in vivo*[J]. J Ethnopharmacol,

188:134-143.
HU WC, YU LL, Wang MH, 2011. Antioxidant and antiproliferative properties of water extract from *Mahonia bealei* (Fort.) Carr. leaves[J]. Food Chem Toxicol, 49(4):799-806.
JANECZEK M, MOY L, LAKE EP, et al., 2018. Review of the efficacy and safety of topical *Mahonia aquifolium* for the treatment of psoriasis and atopic dermatitis[J]. J Clin Aesthet Dermatol, 11(12): 42-47.
LI X, ZANG XL, XU YB, et al., 2018. Optimization of purification of flavonoids from *Mung Bean Coat* by AB-8 macroporous resin and comparison of antioxidant capacity of crude and purified flavonoids[J]. Food Sci, 39(10): 283-290. [李侠，臧学丽，徐祎博，等，2018．AB-8 大孔树脂纯化绿豆皮黄酮工艺优化及纯化前后抗氧化能力比较[J]．食品科学，39(10): 283-290.]
LIN YX, XIA ZN, CHEN H, et al., 2013. Extraction and purification technology of berberine from *Coptis chinensis* Franch from Sichuan Province[J]. Chin Trad Pat Med, 35(6): 1204-1208+1250. [林叶新，夏之宁，陈华，等，2013．川黄连中小檗碱的提取及纯化工艺的研究[J]．中成药，35(6)：1204-1208.]
LIU JS, 2019. A pharmacophylogenetic investigation in the genus *Mahonia* in China[D]. Beijing: Peking Union Medical College. [刘久石，2019．中国十大功劳属药用植物亲缘学研究[D]．北京：北京协和医学院.]
LIU LM, CHEN L, WANG RH, et al., 2010. Study on purification of alkaloids from *Phellodendron amurense* with macroporous resin[J]. Chin Trad Herb Drugs, 41(12): 1990-1993. [刘丽梅，陈琳，王瑞海，等，2010．黄柏生物碱大孔树脂纯化工艺研究[J]．中草药，41(12)：1990-1993.]
PU ZH, WANG BS, CHEN XW, et al., 2016. Studies on the antimicrobial activity of extract from *Mahonia in vitro*[J]. Chin J Vet Med, 52(1): 109-112. [蒲忠慧，王保山，陈希文，等，2016．功劳叶提取物的体外抗菌活性研究[J]．中国兽医杂志，52(1)：109-112.]
WONG BS, HSIAO YC, LIN TW, et al., 2009. The *in vitro* and *in vivo* apoptotic effects of *Mahonia oiwakensis* on human lung cancer cells[J]. Chem Biol Interact, 180(2):165-174.
YAN ZW, BAO AX, GE L, et al., 2015. Solid-liquid extraction kinetics of total alkaloids from Caulis mahoniae[J]. J Guangxi Univ (Nat Sci Ed), 40(3): 527-531. [严志伟，鲍安先，葛利，等，2015．功劳木中总生物碱固-液萃取动力学研究[J]．广西大学学报（自然科学版），40(3): 527-531.]
ZHANG GB, SONG MH, YAO YM, et al., 2021. Status analysis on the approved China's Fifth Class New TCM Drugs and their production process in 2009-2018[J]. Prac J Med Pharm, 38(01): 70-73. [张广斌，宋明辉，姚禹民，等，2021．2009 年—2018 年我国获批的 5 类中药新药及其生产工艺分析[J]．实用医药杂志，38(01)：70-73.]
ZHANG YZ, LI J, YANG J, 2017. Determination of the total alkaloids from the leaves of *Mahonia fortunei* (Lindl.) Fedde by ultraviolet spectrophotometry[J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2017(6): 288-289. [张耀洲，李娟，杨俊，2017．紫外分光光度法测定细叶十大功劳叶中总生物碱含量[J]．黑龙江畜牧兽医，2017(6)：288-289.]
ZHAO XL, WANG SP, MA CL, et al., 2019. Adverse effects of oxidative stress on the body and the regulation of berberine[J]. Feed Res, 42(2): 99-103. [赵雪莉，汪水平，马春林，等，2019．氧化应激对机体的危害及小檗碱的调控作用[J]．饲料研究，42(2)：99-103.]
ZHONG NH, 2019. Determination of the total alkaloids of Caulis Mahonia by acid dye colorimetry[J]. Guangdong Chem Ind, 46(7): 221-222. [钟南海，2019．酸性染料比色法测定功劳木总生物碱的含量[J]．广东化工，2019，46(7)：221-222.]
ZHOU XQ, TIAN DM, YU LJ, et al., 2015. Study of extraction for total alkaloids and the content determination of berberine in *Mahonia bealei*[J]. J Hunan Univ Chin Med, 35(6): 17-20. [周先强，

田丹妹，余林健，等，2015．阔叶十大功劳总生物碱提取及小檗碱含量测定[J]．湖南中医药大学学报，35(6)：17-20.]
ZHU H, WEN L, GENG YL, et al., 2016. Antioxidant activity of alkaloids in Caulis Mahoniae[J]. Shandong Sci, 29(5):24-28. [朱姮，文蕾，耿岩玲，等，2016．功劳木中生物碱类成分抗氧化活性研究[J]．山东科学，29(5)：24-28.]